

20/9/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI  
(c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

011793494

WPI Acc No: 1998-210404/199819

XRAM Acc No: C98-066384

**Production of highly pure ubiquinone-10 - by recombinant microorganism  
comprising gene encoding decaprenyl diphosphate synthase**

Patent Assignee: ALPHA SHOKUHIN KK (ALPH-N)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 10057072	A	19980303	JP 96238682	A	19960822	199819 B

Priority Applications (No Type Date): JP 96238682 A 19960822

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 10057072	A	14	C12N-015/09	

Abstract (Basic): JP 10057072 A

A transgenic microbial organism comprising a gene encoding decaprenyl diphosphate synthase (DDS), is new. Also claimed are:

(1)

DNA encoding DDS having a 315 aa sequence (given in the specification),

and (2) a plasmid containing the DNA of (1).

USE - The transgenic microbial host may be used to produce ubiquinone-10.

ADVANTAGE - The ubiquinone-10 produced by the host is highly pure.

Dwg.0/5

Title Terms: PRODUCE; HIGH; PURE; UBIQUINONE; RECOMBINATION;  
MICROORGANISM;

COMPRISE; GENE; ENCODE; DECA; PRENYL; DI; PHOSPHATE; SYNTHASE

Derwent Class: B05; D16

International Patent Class (Main): C12N-015/09

International Patent Class (Additional): C12N-001/21; C12N-009/12;  
C12P-007/66; C12R-001-19

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B06-A01; D05-H12A; D05-H12E; D05-H14A1; D05-H17A6

Chemical Fragment Codes (M1):

\*01\* M423 M710 M903 N135 Q233 V753

\*02\* M423 M710 M903 N135 Q233 V500 V540

?

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-57072

(43) 公開日 平成10年(1998) 3月3日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/09	Z N A	9282-4B	C 1 2 N 15/00	Z N A A
1/21			1/21	
9/12			9/12	
C 1 2 P 7/66			C 1 2 P 7/66	A
// (C 1 2 N 1/21				

審査請求 未請求 請求項の数11 F D (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-238682

(22) 出願日 平成8年(1996) 8月22日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成8年7月25日  
日本生化学会・日本分子生物学会発行の「第69回日本生  
化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会議演  
要旨集」に発表

(71) 出願人 592055266

アルファー食品株式会社

島根県鏡川郡大社町大字北荒木645番地

(72) 発明者 松田 英幸

島根県松江市西持田町362-66

(72) 発明者 川向 誠

島根県松江市西川津町694-1-2-303

(72) 発明者 田中 克典

島根県松江市上乃木3丁目14-40-301

(72) 発明者 中川 強

島根県松江市西川津町734-8-3-503

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

(54) 【発明の名称】 ユビキノン-10の生成方法

(57) 【要約】

【解決手段】 デカプレニルニリン酸合成酵素の構造遺  
伝子 d d s 1 を単離、配列決定し、大腸菌を用いてこれ  
を発現せしめる。

【効果】 大腸菌からユビキノン-10を生産すること  
ができ、特に宿主としてオクタプレニルニリン酸合成酵  
素の構造遺伝子 i s p B を欠損した大腸菌を用いた場合  
には、ユビキノン-8、同-9の生成を抑制して、同-  
10のみを高純度生産することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 デカプレニルニリン酸合成酵素（DD S）をコードする遺伝子で形質転換してなる形質転換微生物。

【請求項2】 オクタプレニルニリン酸合成酵素（OP S）をコードする遺伝子は破壊しておくことを特徴とする請求項1に記載の形質転換微生物。

【請求項3】 配列表の配列番号1のアミノ酸配列で示されるDDSをコードする遺伝子のDNA。

【請求項4】 配列番号2の塩基配列で示される、請求項3に記載のDDSをコードする遺伝子（dds1遺伝子）のDNA。

【請求項5】 配列番号3の塩基配列で示され、配列番号1のアミノ酸配列をコードする遺伝子のDNAを含有してなる遺伝子のDNA。

【請求項6】 DDSをコードする遺伝子のDNAを組み込んでなるプラスミド。

【請求項7】 請求項3～5のいずれか1項に記載のDNAをベクターpUC18に挿入してなる発現プラスミドpLD2。

【請求項8】 請求項6又は7に記載のプラスミドで形質転換してなる形質転換微生物。

【請求項9】 形質転換微生物が、大腸菌JM109/pLD2又は大腸菌KO229/pLD2である、請求項8に記載の形質転換微生物。

【請求項10】 請求項1、2、8又は9に記載の形質転換微生物を培養することを特徴とするユビキノーン10の生成方法。

【請求項11】 大腸菌KO229/pLD2を培養することを特徴とする高純度ユビキノーン10の生成方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ユビキノ、特にユビキノーン10の生成に関する。更に詳細には、本発明は、酢酸菌由来のデカプレニルニリン酸合成酵素（DDSということもある）をコードする遺伝子を単離、発現せしめてユビキノーン10を生成する新規システムに関するものである。

【0002】

【従来の技術】イソプレノイドは炭素数が5のイソペンテニルニリン酸（IPP）を基本単位とする天然の有機化合物であり自然界に数多く存在している。その例を挙げれば、色素のカロチノイド、天然ゴム、呼吸鎖電子伝達系で働くイソプレノイドキノンなどがそれにあたる。イソプレノイドキノンにはユビキノ（UQ）、メナキノン、プラストキノンなどキノン骨格の違いにより区別されるものが数種存在し、またそれぞれについてはイソプレノイド側鎖長の違いにより多数のホモログが存在する。ユビキノは、キノン骨格にイソプレノイドが付加

した化合物であって、2,5-dimethoxy-5-methyl-6-polyprenyl-1,4-benzoquinoneの構造を持ち、補酵素（CoQ）とも称される重要な役割を果たしている生体成分である。ユビキノは、動植物の組織、微生物の菌体成分として存在し、抗酸化物質としても知られるビタミン様物質であり、電子伝達系の必須成分としても生理的、生化学的に重要な機能を果たしている。天然には側鎖のイソプレノイド単位の数により主にユビキノーン1からユビキノーン12までの同族体が存在している。

【0003】ユビキノは、その薬理、臨床効果についても研究され、うつ血性心不全、筋ジストロフィー、貧血症等に効果があるとされ、心疾患薬その他各種医薬品としても価値の高い物質である。しかし、医薬品として効果が認められているのは、ユビキノーン10のみである。ユビキノーン10は、現在、たばこの葉、酵母あるいは微生物菌体から抽出精製されているが、それらの詳細は明らかにされていない。しかし、その生産は需要に追いつかず、従来の方法に代るより効率的な生産方法の開発が求められている。

【0004】このユビキノの側鎖を形成するイソプレノイドは炭素数が5のイソペンテニルニリン酸（IPP）を基本単位とする、天然有機化合物であり、自然界に数多く存在する。ユビキノの側鎖として利用される。他に、カロチノイド、天然ゴム、またプレニル化蛋白質としての姿も知られている。生体内での生合成は、基本となるIPPや、FPP（ファニシルニリン酸）に新たなIPPが結合していき、徐々に長い鎖長のイソプレノイドに成っていく。このようにイソプレノイドの合成を触媒する酵素はプレニルトランスフェラーゼという。プレニルトランスフェラーゼはバクテリアを中心として多種類存在が確認されている。E. coliではFPS、OPS、UPSの3つの酵素の存在が確認されており、遺伝子として単離されているのはFPSの構造遺伝子であるispAとオクタプレニルニリン酸合成酵素（OPS）の構造遺伝子ispBである。

【0005】このプレニルトランスフェラーゼの作用によって、大腸菌では側鎖長が8のオクタプレニルニリン酸が、出芽酵母では側鎖長が6のヘキサプレニルニリン酸が合成される。一方、大腸菌ubiA産物、酵母COQ2産物によって、PHB（p-ヒドロキシベンゾエート）から派生したベンゾキノン骨格にこれらのイソプレノイドが付加されて、それぞれユビキノーン8、ユビキノーン6が完成する。このようなことから、ispB産物とubiA産物等の触媒するポイントがユビキノ合成にとって重要であると考えられる。ユビキノーン10は、上述のように薬理作用の高い生理活性物質として注目されているが、側鎖を合成するデカプレニルニリン酸合成酵素の遺伝子とubiA産物、酵母COQ2産物を利用することでユビキノーン10の効率的生産につながるとの新しい観点にたち、デカプレニルニリン酸合成酵

素遺伝子のクローニングの必要性に着目した。

#### 【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記した技術の現状に鑑み、UQ-10の側鎖であるデカプレノイド合成に係わる遺伝子を利用し、UQ-10を微生物で生産する技術を開発する目的でなされたものである。

#### 【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するためになされたものであって、各方面から検討の結果、生理活性を有するUQ-10を生成する生物より、その合成に必要な遺伝子、すなわち側鎖のデカプレニルニリン酸を合成するのに必要なデカプレニルニリン酸合成酵素遺伝子を単離し、大腸菌内で発現させることでUQ-10生成を行うこととした。

【0008】この新規技術課題を解決するため、UQ-10を生成するバクテリアの酢酸菌*Gluconobacter suboxydans*のゲノムDNAを鋳型としてPCRを行った。その際使用するプライマーは、ポリプレニルニリン酸合成酵素に高く保存された領域を参考にしてデザインしたmixed primerを使用した。このPCRで得られた断片をベクターにクローン化し、塩基配列を決定した後、推定されるアミノ酸を既知のポリプレニルニリン酸合成酵素と比較して似ているものを選択した。その後、得られた断片をプローブとして*G. suboxydans*のゲノムを対象にゲノミックサザンハイブリダイゼーションを行った。そこで得られた情報を元に部分ゲノムライブラリーを作製し、コロニーリフトアッセイによってこの遺伝子の全領域を含む遺伝子領域を得た。この遺伝子領域内のプレニルニリン酸合成酵素をコードするであろう領域の塩基配列を決定した後、orfを新たにPCRで増幅後、大腸菌発現ベクターにクローン化し、大腸菌*lacZ*遺伝子のプロモーターを利用して発現を行った。この遺伝子を発現させた大腸菌よりUQを調製し、その種類をHPLCで確認した。また、同様な菌体より調製した粗酵素タンパク質を利用して酵素活性測定を行った。

【0009】また、UQ-8合成に必要なオクタプレニルニリン酸合成酵素遺伝子(*ispB*遺伝子)を欠損せしめた大腸菌を作成しておき、一方、上記と同様に、*dds1*遺伝子で大腸菌発現ベクターにクローン化しておき、これを上記した*ispB*破壊株で発現させることにより、UQ-10をメイン産物として生成せしめることも確認した。

【0010】そしてその結果、UQ-10を製造することにはじめて成功した。そしてその際、前者の場合は、UQ-8、UQ-9とともにUQ-10を製造するのに成功し、また、*ispB*破壊株を用いる後者の場合においては、主としてUQ-10を製造することができ、高純度のUQ-10を効率的に製造するのに成功し、これらの成功に基づき、本発明を完成するに至った。以上、本発明について詳述する。

#### 【0011】

##### 【発明の実施の形態】

(1) 配列表の配列番号4 (センスプライマー) 及び配列番号5 (アンチセンスプライマー) に示す2種類のオリゴプライマーを合成委託し、それらを使用して数回PCRを行った。すなわち、95℃ 1分、55℃ 2分、72℃ 1分、30サイクルで初めのPCRを行い、400~500b付近をアガロース電気泳動により切り出して再度同様の反応を行った。その結果、約400b付近にメインバンドを得た。このPCR断片をそのままベクターにクローン化し、塩基配列決定を行ったところ3種類の配列が決定された。それらの全てについてアミノ酸配列を既存のプレニルトランスフェラーゼと比較したところ、その内の一つが大腸菌オクタプレニルニリン酸合成酵素と約40%の相同性を有していた。そこで、この断片は*G. suboxydans*のデカプレニルニリン酸合成酵素遺伝子の一部であると考え、全領域を以下のようにスクリーニングした。

【0012】(2) まず、この断片をプローブとし、*G. suboxydans*のゲノムに対してサザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、ゲノムのEcoRI消化物を使用した場合約5kb付近にシグナルを得たので、ゲノムのEcoRI消化後、5kb付近をアガロース電気泳動により切り出してベクターの同サイトにライゲーションして部分ゲノムライブラリーとした。その後、このライブラリーを保持する大腸菌に対して先のPCR断片をプローブとしてコロニーハイブリダイゼーションを行った。約6000個の形質転換体をスクリーニングした結果、数個のポジティブコロニーを得たのでその菌体よりプラスミドを調製し、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、ポジティブと判断できるプラスミドを得たのでpGS1と名付けた。

【0013】(3) プラスミドpGS1は、約5kbの断片を保持していたので、その内のSalI-HindIII約2.1kbの塩基配列を決定した(図1)。シーケンスしたDNA配列の中からDNAの遺伝情報がm-RNAへ転写され蛋白質へと翻訳される部分であるORF(オープンリーディングフレーム)を検索した。DNAコドンでは、m-RNAの転写開始部分はATG、転写停止部分はTAG、TGA、TAAのいずれかであるので、開始コドン、停止コドンの検索を行い、ORFの決定を行った。その結果、先のPCR断片を含む約1kbのORFを発見した。

【0014】(4) 図1に示すように、この遺伝子は、図1の塩基配列で示される808の位置(ATG:メチオニン)から始まり1756の位置(TAA:対応するアミノ酸なし)で終了する948bp、315アミノ酸からなるORFを保持しており、他のプレニルニリン酸合成酵素と高い相同性を示し、大腸菌*ispB*、酵母*Saccharomyces cerevisiae* Coq1、枯草菌*Bacillus su*

btilisヘプタプレニルニリン酸合成酵素と、それぞれ、47.9%、45.3%、32.4%の相同性があった。そこでこの遺伝子をデカプレニルニリン酸合成酵素遺伝子dds1と命名し、その塩基配列をDDSのアミノ酸配列とともに配列表の配列番号1及び2にそれぞれ示した。

【0015】(5) 得られたシーケンスデータを基に、ORFを含む領域が増幅できるオリゴプライマー(配列番号4に示すセンスプライマー、配列番号5に示すアンチセンスプライマー)を合成し、dds1のインサートDNA(その塩基配列を配列番号3に示す)をPCRで増幅した。増幅されたインサートDNAは、5'側にBamHIサイト、3'側にHindIIIサイトをそれぞれ保存させており、プラスミドベクターpUC18(宝酒造)のBamHI-HindIIIサイトにクローン化した。上記のサイトにインサートDNAを連結することによりベクターのlacZ遺伝子と融合する形でdds1を発現させた。すなわち、dds1のORFを大腸菌lacZ遺伝子のプロモーター下で発現させるためにプラスミドpLD2を構築した(図2)。

【0016】アンピシリン50 $\mu$ g/mlを含むLB液体培地10mlに、プラスミドpLD2を保持させた大腸菌JM109のシングルコロニーを滅菌した爪楊枝で植菌し、37℃で一晩振とう培養した。上記と同様の培地250mlに、前培養しておいた培養液2.5ml(1%植菌)を植菌し、37℃で2~3時間振とう培養した。その後、分光光度計でOD<sub>600</sub>が約0.5であることを確認して、1M IPTG(イソプロピルー1-チオール- $\beta$ -D-ガラクトサイド)を0.25ml(最終濃度1mM)添加して、更に12時間同様に培養した。得られた菌体からUQを調製しHPLCで解析したところ、図3に示すように従来JM109の保持しないUQが検出された。ピーク1はUQ-8であるが、ピーク3は標準物質のUQ-10と一致することからUQ-10であり、ピーク2はUQ-9であると考えられる。

【0017】上記dds1で形質転換した形質転換微生物である、pLD2を保持させた大腸菌JM109(Escherichia coli JM109/pLD2)を、遺伝子発現の誘導物質であるイソプロピルー1-チオール- $\beta$ -D-ガラクトサイド(IPTG)非存在下で培養し、同様にUQを調製したところ、生成量は10分の1にまで減少した。このことから、プラスミドとして導入したdds1遺伝子を利用することによりUQ-10を生成することが明らかになった。

【0018】次に、Escherichia coli JM109/pLD2より粗酵素蛋白質を調製し、活性測定を行った。すなわち、基質として<sup>14</sup>C-I PP(インペンテニルニリン酸:Amersham LIFESCIENCE社)とFPP(ファルネシルニリン酸)を使用し、30℃で4時間反応させた後、ブタノールで抽出したポリプレニルニリン酸を加水

分解後、ポリプレニールの状態でTLC展開した。その結果、図4に示すようにpLD2を保持させたJM109においてデカプレニールが検出された。これらの結果から、我々が得たdds1遺伝子はUQ-10合成に必要な側鎖のデカプレニルニリン酸合成を担う遺伝子であることが明らかとなり、dds1遺伝子を大腸菌内で発現させてやることでUQ-10生成が可能であることが証明された。

【0019】(6) 以上、プラスミドpLD2で形質転換した大腸菌JM109を用いる、UQ-8、UQ-9の生成を伴うUQ-10の生成についての実施例について述べた。次に、より純品でUQ-10を生成できる系についての実施例について述べる。

【0020】(7) KO229/pLD2の作製  
下記するように、大腸菌KO229(Escherichia coli KO229)は、UQ-8合成に必要なispB遺伝子を欠損している株であるため、UQ-8を合成することはできない。したがって、この株においてプラスミドpLD2を発現させることにより、UQ-10のみを単一品として生成させたり、その生成量を増加させることが期待できる。換言すれば、上記した大腸菌JM109/pLD2は、UQ-10は生成するものの、UQ-8がメイン産物であるのに対し、本菌株である大腸菌KO229/pLD2はUQ-10をメイン産物とするものであって、本実施例はUQ-10の高純度生産を目的としたものである。

【0021】a) プラスミド上でのispB遺伝子の破壊

まずispBを保持するプラスミドpKA3のispB内に存在するPstIサイトを制限酵素で切断した。そこにcat(クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ)遺伝子を導入した。その際、pKA3、catの両方のサイトをT4ポリメラーゼで平滑末端に修飾してからライゲーションした。なお、cat遺伝子はpACYC184(ニッポンジーン社)をHaeII処理することで調製した。得られたプラスミドpTC2よりcatで分断されたispB遺伝子の領域をEcoRI処理により切り出し、これを断片Qとした。

【0022】b) ispB欠損株の作製

相同組換えの起こりやすい大腸菌FS1576をpKA3で形質転換した。得られた形質転換体FS1576/pKA3を、a)で調製した断片Qを用いて再度形質転換した。ここで得られる形質転換体は、クロラムフェニコール(Cm)とスペクチノマイシン(Spc)を50 $\mu$ g/ml含むLB寒天培地で生育してきた菌株であり、染色体か、あるいはpKA3上のispB遺伝子が断片Qで置き換わっていた(相同組換えが起こっていた)。得られたCm+SpC耐性株よりpKA3をとり、その大きさに変化のない株を選択した。ここで選択された株は、染色体上のispB遺伝子がcatで破壊

されており、そのかわりに無効の *ispB* 遺伝子をプラスミド *pKA3* として保持していた。この株を大腸菌 *KO229/pKA3* とした。

【0023】 c) *KO229/pLD2* 株の単離  
b) で得られた *KO229/pKA3* を *dds1* 遺伝子を持つプラスミド *pLD2* で形質転換した。 *pLD2* はアンピシリン (*Amp*) 耐性遺伝子を持つので *Cm*、*Spc*、*Amp* をそれぞれ  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  含む *LB* 寒天培地で選択した。得られた *KO229/pKA3+pLD2* 株を *Amp+Cm* を含む *LB* 液体培地で培養し、飽和したところで同様な新たな培地に継代培養した。この操作を計5回繰り返し、*Amp+Cm* を含む *LB* 寒天培地に希釈してまく。生えてきた *Amp+Cm* 耐性株を *Amp+Cm* および *Spc+Cm* 寒天培地に100個づつプレブリカし、*Amp+Cm* 耐性、*Spc* 感受性株を選択した。得られた株を大腸菌 *KO229/pLD2* として *UQ-10* の生産に利用した。本菌株の有用性に鑑み、本菌株を大腸菌 *KO229/pLD2* と命名し、工業技術院生命工学工業技術研究所に *FERM BP-5626* として国際寄託した。

【0024】 (8) *UQ-10* の生産  
先の実施例において *pLD2* で形質転換した大腸菌 *JM109* を培養した場合と同様に、*Escherichia coli KO229/pLD2 (FERM BP-5626)* をアンピシリン  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$  含有 *LB* 培地において  $37^\circ\text{C}$  で振とう培養し、前培養した菌体を新しい培地に1%植菌し、 $\text{OD}_{600}$  が約0.5に達したところで *IPTG* を  $1 \text{mM}$  になるように加えて更に対数増殖期後期まで培養した。得られた菌体から *UQ* を調製し、*HPLC* で解析したところ、図5に示すように *UQ-10* のメインピークが認められ、*KO229/pLD2 (FERM BP-5626)* による *UQ-10* の高純品生産が確認された。なお本菌株の場合は、先の実施例の *JM109/pLD2* の場合とは異なり、*IPTG* 添加培地で培養した

場合は若干の *UQ-10* の生産量の増加が認められたが、*IPTG* 無添加培地で培養した場合と格段の生産量の差は認められなかった。

【0025】

【発明の効果】本発明によって、デカブレニルニリン酸合成酵素の構造遺伝子を単離し、その配列決定に成功しただけでなく、大腸菌で発現させることにはじめて成功した。その結果、*UQ-8*、*UQ-9* の生産のほか、*UQ-10* の大腸菌による生産がはじめて可能になっただけでなく、*ispB* 遺伝子欠損株を用いることにより、*UQ-8* の生産を抑制して *UQ-10* を選択的に高純度、大量生産することもはじめて可能となった。

【0026】

【配列表】本発明に係る *DDS* のアミノ酸配列 (315 アミノ酸) を配列番号1に示し、それをコードする遺伝子 (*dds1*) の塩基配列 (948bp) を配列番号2に示し、*dds1* 遺伝子を含みセンスプライマーからアンチセンスプライマーまでの領域を配列番号3に示す。

【0027】配列番号4、5は、*PCR* 用プライマーを示し、配列番号4はセンスプライマー、配列番号5はアンチセンスプライマーを示す。下記表1～10に、配列番号1～5で示される各配列を示す。

【0028】

【表1】

【配列表】

配列番号: 1  
配列の長さ: 315  
配列の型: アミノ酸  
トポロジー: 直鎖状  
配列の種類: 蛋白質  
配列

【0029】

【表2】

										810
										ATG
										Met
819	828	837	846	855	864					
CTG GCC TGC AAC CGG GCG ATC ATC GCC CGG ATG GAA AGT CCG GTT CCC CTG ATC										
Leu Ala Cys Asn Arg Ala Ile Ile Ala Arg Met Glu Ser Pro Val Pro Leu Ile										
873	882	891	900	909	918					
CCG CAG CTT GGC GCC CAT CTT GTC GCG GCG GGA GGC AAG CGC CTT CGC CCG CTG										
Pro Gln Leu Gly Ala His Leu Val Ala Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Leu										
927	936	945	954	963	972					
CTG ACG CTG GCC TCC GCA CGT CTG TGC GGT TAT CAG CCG GGT CCG GAC CAT CAG										
Leu Thr Leu Ala Ser Ala Arg Leu Cys Gly Tyr Gln Pro Gly Pro Asp His Gln										
981	990	999	1008	1017	1026					
CGT CAT GTC GGG CTC GCC GCC TGC GTT GAG TTC ATT CAT ACC GCC ACA CTG CTG										
Arg His Val Gly Leu Ala Ala Cys Val Glu Phe Ile His Thr Ala Thr Leu Leu										
1035	1044	1053	1062	1071	1080					
CAT GAT GAT GTC GAT GAT GAG AGC ACG TTG CGT CCG GGC CTG GCT TCG GCC AAT										
His Asp Asp Val Val Asp Glu Ser Thr Leu Arg Arg Gly Leu Ala Ser Ala Asn										
1089	1098	1107	1116	1125	1134					
GCC GTG TTC GGC AAC AAG GCG TCC GTG CTG GTA GGT GAC TTC CTG TTC GCC CGC										
Ala Val Phe Gly Asn Lys Ala Ser Val Leu Val Gly Asp Phe Leu Phe Ala Arg										
1143	1152	1161	1170	1179	1188					
TCG TTC CAG CTT ATG ACA GCA GAC GGC TCC CTG AAG GTC ATG GCG ATC CTG TCG										
Ser Phe Gln Leu Met Thr Ala Asp Gly Ser Leu Lys Val Met Ala Ile Leu Ser										
1197	1206	1215	1224	1233	1242					
GAT GCA TCG GCG ACA ATT GCT GAA GGT GAA GTC CTT CAG ATG GTC GTG CAG AAC										
Asp Ala Ser Ala Thr Ile Ala Glu Gly Glu Val Leu Gln Met Val Val Gln Asn										
1251	1260	1269	1278	1287	1296					
GAC CTT ACG ACG CCT GTA GAA CGC TAT CTT GAA GTC ATT CAC GGC AAG ACG GCT										
Asp Leu Thr Thr Pro Val Glu Arg Tyr Leu Glu Val Ile His Gly Lys Thr Ala										
1305	1314	1323	1332	1341	1350					
GCG CTG TTT GCG GCT GCC TGC CGT GTC GGC GCT GTC GTG GCC GAG CGT CCG GAA										
Ala Leu Phe Ala Ala Ala Cys Arg Val Gly Ala Val Val Ala Glu Arg Pro Glu										
1359	1368	1377	1386	1395	1404					
GCA GAA GAG GAA GCT CTG GAG CGG TTT GGC ACC AAT CTG GGT ATG GCG TTC CAG										
Ala Glu Glu Glu Ala Leu Glu Arg Phe Gly Thr Asn Leu Gly Met Ala Phe Gln										
1413	1422	1431	1440	1449	1458					
CTT GTT GAT GAT GCC CTG GAT TAT GCC GCA GAC CAG CAG GTT TTG GGC AAG ACC										
Leu Val Asp Asp Ala Leu Asp Tyr Ala Ala Asp Gln Gln Val Leu Gly Lys Thr										

【表3】

【0030】

```

      1467      1476      1485      1494      1503      1512
GTT GGT GAT GAC ATG CGT GAA GGC AAG ATC ACC CTG CCG GTC CTG GCC GCC TAT
---
Val Gly Asp Asp Met Arg Glu Gly Lys Ile Thr Leu Pro Val Leu Ala Ala Tyr

      1521      1530      1539      1548      1557      1566
GAG GCT GGC TCG CCG GAA GAT CGT ATT TTC TGG GAG CGC GTC ATT GGA GAA GGG
---
Glu Ala Gly Ser Pro Glu Asp Arg Ile Phe Trp Glu Arg Val Ile Gly Glu Gly

      1575      1584      1593      1602      1611      1620
GAG CAG ACT GAG GAC GAT CTG CCT CAT GCT CTG AAC CTG ATT GCA AAG ACG GGT
---
Glu Gln Thr Glu Asp Asp Leu Pro His Ala Leu Asn Leu Ile Ala Lys Thr Gly

      1629      1638      1647      1656      1665      1674
GCG ATC AAT ACG ACG ATC GCC CGC GCG CAG GTC TAT GCC GAC GCA GCT GTT GAA
---
Ala Ile Asn Thr Thr Ile Ala Arg Ala Gln Val Tyr Ala Asp Ala Ala Val Glu

      1683      1692      1701      1710      1719      1728
GCC CTG TCC ATT TTC CCG GAT AGC GAA CTG CGC CGC CTT CTG ATC GAA ACG GTT
---
Ala Leu Ser Ile Phe Pro Asp Ser Glu Leu Arg Arg Leu Leu Ile Glu Thr Val

      1737      1746      1755      1764      1773      1782
CAG TTC ACG GTG AAT CCG GCC CGC TAA AAA CCA TAT TCT GCG TCA GCC AAC TCA
---
Gln Phe Thr Val Asn Arg Ala Arg *** Lys Pro Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ser

      1791      1800      1809      1818      1827      1836
GGG CTG ACG CAG AAT ATG CTT TCA GGC TGT CAA AGC GAG CGG CCC GAA CAG TGA
---
Gly Leu Thr Gln Asn Met Leu Ser Gly Cys Gln Ser Glu Arg Pro Glu Gln ***

      1845      1854
CCA TCC AGA AAA ACC TAA
---
Pro Ser Arg Lys Thr ***

```

【0031】

【表4】

【0032】

【表5】

配列番号: 2  
 配列の長さ: 948  
 配列の型: 核酸  
 鎖の数: 二本鎖  
 トポロジー: 直鎖状  
 配列の種類: Genomic DNA  
 起源  
   生物名: *Gluconobacter suboxydans*  
   株名: wild type  
 配列



										810
										ATG
										---
										Met
819	828	837	846	855	864					
CTG GCC	TGC AAC	CGG GCG	ATC ATC	GCC CCG	ATG GAA	AGT CCG	GTT CCC	CTG ATC		
Leu Ala Cys	Asn Arg	Ala Ile	Ile Ala	Arg Met	Glu Ser	Pro Val	Pro Leu	Ile		
873	882	891	900	909	918					
CCG CAG	CTT GGC	GCC CAT	CTT GTC	GCG GCG	GGA GGC	AAG CCG	CTT CCG	CCG CTG		
Pro Gln	Leu Gly	Ala His	Leu Val	Ala Ala	Gly Gly	Lys Arg	Leu Arg	Pro Leu		
927	936	945	954	963	972					
CTG ACG	CTG GCC	TCC GCA	CGT CTG	TGC GGT	TAT CAG	CCG GGT	CCG GAC	CAT CAG		
Leu Thr	Leu Ala	Ser Ala	Arg Leu	Cys Gly	Tyr Gln	Pro Gly	Pro Asp	His Gln		
981	990	999	1008	1017	1026					
CGT CAT	GTC GGG	CTC GCC	GCC TGC	GTT GAG	TYC ATT	CAT ACC	GCC ACA	CTG CTG		
Arg His	Val Gly	Leu Ala	Ala Cys	Val Glu	Phe Ile	His Thr	Ala Thr	Leu Leu		
1035	1044	1053	1062	1071	1080					
CAT GAT	GAT GTC	GTG GAT	GAG AGC	ACG TTG	CGT CCG	GGG CTG	GCT TCG	GCC AAT		
His Asp	Asp Val	Val Asp	Glu Ser	Thr Leu	Arg Arg	Gly Leu	Ala Ser	Ala Asn		
1089	1098	1107	1116	1125	1134					
GCC GTG	TYC GGC	AAC AAG	GCG TCC	GTG CTG	GTA GGT	GAC TTC	CTG TTC	GCC CGC		
Ala Val	Phe Gly	Asn Lys	Ala Ser	Val Leu	Val Gly	Asp Phe	Leu Phe	Ala Arg		
1143	1152	1161	1170	1179	1188					
TCG TTC	CAG CTT	ATG ACA	GCA GAC	GGC TCC	CTG AAG	GTC ATG	GCG ATC	CTG TCG		
Ser Phe	Gln Leu	Met Thr	Ala Asp	Gly Ser	Leu Lys	Val Met	Ala Ile	Leu Ser		
1197	1206	1215	1224	1233	1242					
GAT GCA	TCG GCG	ACA ATT	GCT GAA	GGT GAA	GTC CTT	CAG ATG	GTC GTG	CAG AAC		
Asp Ala	Ser Ala	Thr Ile	Ala Glu	Gly Glu	Val Leu	Gln Met	Val Val	Gln Asn		
1251	1260	1269	1278	1287	1296					
GAC CTT	ACG ACG	CCT GTA	GAA CGC	TAT CTT	GAA GTC	ATT CAC	GGC AAG	ACG GCT		
Asp Leu	Thr Thr	Pro Val	Glu Arg	Tyr Leu	Glu Val	Ile His	Gly Lys	Thr Ala		
1305	1314	1323	1332	1341	1350					
GCG CTG	TTT GCG	GCT GCC	TGC CGT	GTC GGC	GCT GTC	GTG GCC	GAG CGT	CCG GAA		
Ala Leu	Phe Phe	Ala Ala	Ala Cys	Arg Val	Gly Ala	Val Val	Ala Glu	Arg Pro	Glu	
1359	1368	1377	1386	1395	1404					
GCA GAA	GAG GAA	GCT CTG	GAG CGG	TTT GGC	ACC AAT	CTG GGT	ATG GCG	TYC CAG		
Ala Glu	Glu Glu	Ala Leu	Glu Arg	Phe Gly	Thr Asn	Leu Gly	Met Ala	Phe Gln		
1413	1422	1431	1440	1449	1458					
CTT GTT	GAT GAT	GCC CTG	GAT TAT	GCC GCA	CAC CAG	CAG GTT	TTG GGC	AAG ACC		
Leu Val	Asp Asp	Ala Leu	Asp Tyr	Ala Ala	Asp Gln	Gln Val	Leu Gly	Lys Thr		

【表6】

【0033】

1467	1476	1485	1494	1503	1512
GTT GGT GAT GAC ATG CGT GAA GGC AAG ATC ACC CTG CCG GTC CTG GCC GCC TAT					
Val Gly Asp Asp Met Arg Glu Gly Lys Ile Thr Leu Pro Val Leu Ala Ala Tyr					
1521	1530	1539	1548	1557	1566
GAG GCT GGC TCG CCG GAA GAT CGT ATT TTC TGG GAG CGC GTC ATT GGA GAA GGG					
Glu Ala Gly Ser Pro Glu Asp Arg Ile Phe Trp Glu Arg Val Ile Gly Glu Gly					
1575	1584	1593	1602	1611	1620
GAG CAG ACT GAG GAC GAT CTG CCT CAT GCT CTG AAC CTG ATT GCA AAG ACG GGT					
Glu Gln Thr Glu Asp Asp Leu Pro His Ala Leu Asn Leu Ile Ala Lys Thr Gly					
1629	1638	1647	1656	1665	1674
GCG ATC AAT ACG ACG ATC GCC CGC GCG CAG GTC TAT GCC GAC GCA GCT GTT GAA					
Ala Ile Asn Thr Thr Ile Ala Arg Ala Gln Val Tyr Ala Asp Ala Ala Val Glu					
1683	1692	1701	1710	1719	1728
GCC CTG TCC ATT TTC CCG GAT ACG GAA CTG CGC CGC CTT CTG ATC GAA ACG GTT					
Ala Leu Ser Ile Phe Pro Asp Ser Glu Leu Arg Arg Leu Leu Ile Glu Thr Val					
1737	1746	1755	1764	1773	1782
CAG TTC ACG GTG AAT CCG GCC CGC TAA AAA CCA TAT TCT GCG TCA GCC AAC TCA					
Gln Phe Thr Val Asn Arg Ala Arg *** Lys Pro Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ser					
1791	1800	1809	1818	1827	1836
GGG CTG ACG CAG AAT ATG CTT TCA GGC TGT CAA AGC GAG CCG CCC GAA CAG TGA					
Gly Leu Thr Gln Asn Met Leu Ser Gly Cys Gln Ser Glu Arg Pro Glu Gln ***					
1845	1854				
CCA TCC AGA AAA ACC TAA					
Pro Ser Arg Lys Thr ***					

【0034】

【表7】

配列番号: 3  
 配列の長さ: 1230  
 配列の型: 核酸  
 鎖の数: 二本鎖  
 トポロジー: 直鎖状  
 配列の種類: Genomic DNA  
 起源  
 生物名: *Gluconobacter suboxydans*  
 株名: wild type  
 配列

【0035】

【表8】

										747			756														
										AAG CTG TGG TTC AAG GTT																	
										Lys Leu Trp Phe Lys Val																	
										765			774			783			792			801			810		
GCA	GGA	GGC	GAG	AGC	GCG	CTA	TCG	GCA	CTC	TCT	ACC	TAT	CTT	GAA	GAA	GAC	ATG										
Ala	Gly	Gly	Glu	Ser	Ala	Leu	Ser	Ala	Leu	Ser	Thr	Tyr	Leu	Glu	Glu	Asp	Met										
										819			828			837			846			855			864		
CTG	GCC	TGC	AAC	CGG	GCG	ATC	ATC	GCC	CGG	ATG	GAA	AGT	CCG	GTT	CCC	CTG	ATC										
Leu	Ala	Cys	Asn	Arg	Ala	Ile	Ile	Ala	Arg	Met	Glu	Ser	Pro	Val	Pro	Leu	Ile										
										873			882			891			900			909			918		
CCG	CAG	CTT	GGC	GCC	CAT	CTT	GTC	GCG	GCG	GGA	GGC	AAG	CGC	CTT	CGC	CCG	CTG										
Pro	Gln	Leu	Gly	Ala	His	Leu	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Lys	Arg	Leu	Arg	Pro	Leu										
										927			936			945			954			963			972		
CTG	ACG	CTG	GCC	TCC	GCA	CGT	CTG	TGC	GGT	TAT	CAG	CCG	GGT	CCG	GAC	CAT	CAG										
Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Ala	Arg	Leu	Cys	Gly	Tyr	Gln	Pro	Gly	Pro	Asp	His	Gln										
										981			990			999			1008			1017			1026		
CGT	CAT	GTC	GGG	CTC	GCC	GCC	TGC	GTT	GAG	YTC	ATT	CAT	ACC	GCC	ACA	CTG	CTG										
Arg	His	Val	Gly	Leu	Ala	Ala	Cys	Val	Glu	Phe	Ile	His	Thr	Ala	Thr	Leu	Leu										
										1035			1044			1053			1062			1071			1080		
CAT	GAT	GAT	GTC	GTG	GAT	GAG	AGC	ACG	TTC	CGT	CGG	GGG	CTG	GCT	TCG	GCC	AAT										
His	Asp	Asp	Val	Val	Asp	Glu	Ser	Thr	Leu	Arg	Arg	Gly	Leu	Ala	Ser	Ala	Asn										
										1089			1098			1107			1116			1125			1134		
GCC	GTG	TTC	GGC	AAC	AAG	GCG	TCC	GTG	CTG	GTA	GGT	GAC	TTC	CTG	TTC	GCC	CGC										
Ala	Val	Phe	Gly	Asn	Lys	Ala	Ser	Val	Leu	Val	Gly	Asp	Phe	Leu	Phe	Ala	Arg										
										1143			1152			1161			1170			1179			1188		
TCG	TTC	CAG	CTT	ATG	ACA	GCA	GAC	GGC	TCC	CTG	AAG	GTC	ATG	GCG	ATC	CTG	TCG										
Ser	Phe	Gln	Leu	Met	Thr	Ala	Asp	Gly	Ser	Leu	Lys	Val	Met	Ala	Ile	Leu	Ser										
										1197			1206			1215			1224			1233			1242		
GAT	GCA	TCG	GCG	ACA	ATT	GCT	GAA	GGT	GAA	GTC	CTT	CAG	ATG	GTC	GTG	CAG	AAC										
Asp	Ala	Ser	Ala	Thr	Ile	Ala	Glu	Gly	Glu	Val	Leu	Gln	Met	Val	Val	Gln	Asn										
										1251			1260			1269			1278			1287			1296		
GAC	CTT	ACG	ACG	CCT	GTA	GAA	CGC	TAT	CTT	GAA	GTC	ATT	CAC	GGC	AAG	ACG	GCT										
Asp	Leu	Thr	Thr	Pro	Val	Glu	Arg	Tyr	Leu	Glu	Val	Ile	His	Gly	Lys	Thr	Ala										
										1305			1314			1323			1332			1341			1350		
GCG	CTG	TTT	GCG	GCT	GCC	TGC	CGT	GTC	GGC	GCT	GTC	GTG	CCC	GAG	CGT	CCG	GAA										
Ala	Leu	Phe	Ala	Ala	Ala	Cys	Arg	Val	Gly	Ala	Val	Val	Ala	Glu	Arg	Pro	Glu										
										1359			1368			1377			1386			1395			1404		
GCA	GAA	GAG	GAA	GCT	CTG	GAG	CGG	TTT	GGC	ACC	AAT	CTG	GGT	ATG	GCG	TTC	CAG										
Ala	Glu	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Arg	Phe	Gly	Thr	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Phe	Gln										
										1413			1422			1431			1440			1449			1458		
CTT	GTT	GAT	GAT	GCC	CTG	GAT	TAT	GCC	GCA	GAC	CAG	CAG	GTT	TTG	GGC	AAG	ACC										
Leu	Val	Asp	Asp	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Val	Leu	Gly	Lys	Thr											

[0036]

1467	1476	1485	1494	1503	1512
GTI GGT GAT GAC ATG CGT GAA GGC AAG ATC ACC CTG CCG GTC CTG GCC GCC TAT					
Val Gly Asp Asp Met Arg Glu Gly Lys Ile Thr Leu Pro Val Leu Ala Ala Tyr					
1521	1530	1539	1548	1557	1566
GAG GCT GGC TCG CCG GAA GAT CGT ATT TTC TGG GAG CGC GTC ATT GGA GAA GGG					
Glu Ala Gly Ser Pro Glu Asp Arg Ile Phe Trp Glu Arg Val Ile Gly Glu Gly					
1575	1584	1593	1602	1611	1620
GAG CAG ACT GAG GAC GAT CTG CCT CAT GCT CTG AAC CTG ATT GCA AAG ACG GGT					
Glu Gln Thr Glu Asp Asp Leu Pro His Ala Leu Asn Leu Ile Ala Lys Thr Gly					
1629	1638	1647	1656	1665	1674
CCG ATC AAT ACG ACG ATC GCC CGC GCG CAG GTC TAT GCC GAC GCA GCT GTT GAA					
Ala Ile Asn Thr Thr Ile Ala Arg Ala Gln Val Tyr Ala Asp Ala Ala Val Glu					
1683	1692	1701	1710	1719	1728
GCC CTG TCC ATT TTC CCG GAT AGC GAA CTG CGC CGC CTT CTG ATC GAA ACG GTT					
Ala Leu Ser Ile Phe Pro Asp Ser Glu Leu Arg Arg Leu Leu Ile Glu Thr Val					
1737	1746	1755	1764	1773	1782
CAG TTC ACG GTG AAT CCG GCC CGC TAA AAA CCA TAT TCT GCG TCA GCC AAC TCA					
Gln Phe Thr Val Asn Arg Ala Arg *** Lys Pro Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ser					
1791	1800	1809	1818	1827	1836
GGG CTG ACG CAG AAT ATG CTT TCA GGC TGT CAA AGC GAG CCG CCC GAA CAG TGA					
Gly Leu Thr Gln Asn Met Leu Ser Gly Cys Gln Ser Glu Arg Pro Glu Gln ***					
1845	1854	1863	1872	1881	1890
CCA TCC AGA AAA ACC TAA ACG ACT TAC GGC TGC TTC CAG GCG CAG CGC ATT GAA					
Pro Ser Arg Lys Thr *** Thr Thr Tyr Gly Cys Phe Gln Ala Gln Arg Ile Glu					
1899	1908	1917	1926	1935	1944
TGG TGC GCT GGT CAT GAA GAA ACG GGG CAG CTC GGC GGC TGT GTT GGT TGC CGA					
Trp Cys Ala Gly His Glu Glu Thr Gly Gln Leu Gly Gly Cys Val Gly Cys Arg					
1953	1962				
CGG AAC GAC GGT TTC GAC AAC AGT					
Arg Asn Asp Gly Phe Asp Asn Ser					

【0037】

【表10】

配列番号：4  
 配列の長さ：27  
 配列の型：核酸  
 鎖の数：一本鎖  
 トポロジー：直鎖状  
 配列の種類：他の核酸 合成DNA  
 配列  
 AAGGATCCAA AGCTGTGTT CAAGGTT 27

配列番号：5  
 配列の長さ：29  
 配列の型：核酸  
 鎖の数：一本鎖  
 トポロジー：直鎖状  
 配列の種類：他の核酸 合成DNA  
 配列  
 CCAAGCTTAC TGTGTGCGAA ACCGTCGTT 29

【図面の簡単な説明】

【図1】 DDSをコードする遺伝子を含む塩基配列を示す。

【図2】 発現プラスミドpLD2を示す。

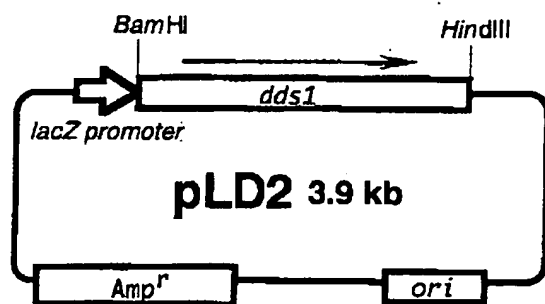
【図3】 大腸菌 JM109/pLD2培養物から抽出したUQのHPLCクロマトグラムを示す。

【図4】 大腸菌 JM109/pLD2産物の薄層クロマトグラムを示す。

【図5】 大腸菌 KO229/pLD2培養物から抽出したUQのHPLCクロマトグラムを示す。

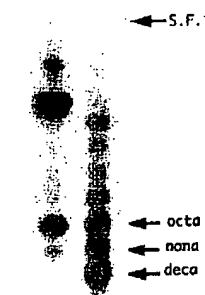
1	ATC	CAT	GCC	TGT	GGA	TCG	CTG	TTT	TCC	GCG	CTG	AGT	GCC	AGA	CGC	CGT	CGC	TCA	54
35	TCC	GGT	GAA	GCC	GTG	CCG	TGG	GCG	CTA	TGC	CAG	GGA	GGA	TTG	GCC	ATC	ACA	TGG	108
109	TGA	AAG	CGC	CCG	TTT	GCT	GTC	GGC	GCT	CGG	GCG	CGG	AAG	GTT	GAA	GGA	ATG	GCT	152
163	GGA	ACG	GTG	GCC	TGC	AAC	GAC	CGA	AAG	ACT	GGT	TCG	CGA	GTC	TGA	AAA	CGG	ATT	216
217	GTT	CAG	GAA	ATT	GTG	AAC	GGC	CAG	TGC	CAC	CGT	GTC	GGG	ATC	TGC	TTC	AAA	GCC	270
271	AAC	TCC	GCT	GAA	GCC	CGG	AAC	GCC	GCC	TGC	AAG	AAC	AAA	ACA	ATC	CGG	CTC	CCG	324
325	CAC	ATC	ATC	CGG	CTT	CCA	AAA	ACG	GTC	TCC	CCG	GCT	CTG	GCA	GGA	ATG	GCT	GCG	378
379	GCC	ATC	AGC	ACC	GGT	TCC	AGG	CCC	GTG	COA	TAT	CCC	TGC	CGG	AAC	TGC	GTG	TAG	432
433	CGG	AGT	CGT	CCA	TTC	AGC	AAT	GTG	CCG	TCT	CTT	TCT	TTT	TCA	GAA	AGG	GGG	GAA	486
487	GTG	CTG	TTC	AGG	GAG	GTC	TTA	AGG	GAC	TGC	AAT	GGG	TTG	ACC	GCC	TTC	CTG	CTG	540
541	CCG	CTC	ATA	TGG	TCA	TTC	CAA	TTT	GTC	GTC	CGG	CGT	GAA	CAT	GCC	CCG	GTA	ACG	594
595	GTG	CCA	CGC	AGG	AAC	CAA	CGA	ACG	CCA	AAC	ACC	CCA	TAT	CAT	ATC	GTG	CCT	GCA	648
649	TGG	TCC	TGG	GCA	GTC	CCC	GGG	GCG	TTA	TGC	AGG	AAC	TGG	AGT	AAA	GAC	CCT	TGG	702
703	ATT	CTG	CCG	CAC	CGG	ATG	CCG	CCG	TGA	CCG	TTG	ATA	AAG	CTG	TGG	TTC	AAG	GTT	756
757	GCA	GGA	GGC	GAG	AGC	GCG	CTA	TCG	GCA	CTC	TCT	ACC	TAT	CTT	GAA	GAA	GAC	ATG	810
811	CTG	GCC	TGC	AAC	CGG	GCG	ATC	ATC	GCC	CGG	ATG	GAA	AGT	CCG	GTT	CCC	CTG	ATC	864
2	L	A	C	N	R	A	I	I	A	R	M	E	S	P	V	F	L	I	19
865	CCG	CAG	CTT	GGC	GCC	CAT	CTT	GTC	GCG	GCG	GGA	GCG	AAG	CGC	CTT	CGC	CCG	CTG	918
20	P	Q	L	G	A	H	L	V	A	A	G	G	R	R	L	R	P	L	37
919	CTG	ACG	CTG	GCC	TCC	GCA	CGT	CTG	TGC	GGT	TAT	CAG	CCG	GGT	CCG	GAC	CAT	CAG	972
38	L	T	L	A	S	A	R	L	C	G	I	Q	P	G	P	D	H	Q	55
973	CGT	CAT	GTC	GGG	CTC	GCC	GCC	TGC	GTT	GAG	TTC	ATT	CAT	ACC	GCC	ACA	CTG	CTG	1026
56	R	H	V	G	L	A	A	C	V	E	F	I	R	T	A	T	L	L	73
1027	CAT	GAT	GAT	GTC	GTG	GAT	GAG	AGC	ACG	TTG	CGT	CGG	GGG	CTG	GCT	TGC	GCC	AAT	1080
74	H	D	D	V	V	D	E	S	T	L	R	R	G	L	A	S	A	N	91
1081	GCC	GTG	TTC	GGC	AAC	AAG	GCG	TCC	GTG	CTG	GTA	GGT	GAC	TTC	CTG	TTC	GCC	CGC	1134
92	A	V	F	G	N	K	A	S	V	L	V	G	D	F	L	P	A	R	109
1135	TCG	TTC	CAG	CTT	ATG	ACA	GCA	GAC	GGC	TCC	CTG	AAG	GTC	ATG	GCG	ATC	CTG	TCC	1188
110	S	F	Q	L	H	T	A	D	G	S	L	X	V	M	A	I	L	S	127
1189	GAT	GCA	TCG	GCG	ACA	ATT	GCT	GAA	GGT	GAA	GTC	CTT	CAG	ATG	GTC	GTG	CAG	AAC	1242
128	D	A	S	A	T	I	A	E	G	E	V	L	Q	M	V	V	Q	N	145
1243	GAC	CTT	ACG	ACG	CCT	GTA	GAA	GCG	TAT	CTT	GAA	GTC	ATT	CAC	GGC	AAG	ACG	GCT	1296
146	D	L	T	T	P	V	E	R	Y	L	E	V	I	H	C	K	T	A	163
1297	GCG	CTG	TTT	GCG	GCT	GCC	TGC	CGT	GTC	GGC	GCT	GTC	GTG	GCC	GAG	CGT	CCG	GAA	1350
164	A	L	F	A	A	A	C	R	V	G	A	V	V	A	E	R	P	E	181
1351	GGA	GAA	GAG	GAA	GCT	CTG	GAG	CGG	TTT	GGC	ACC	AAT	CTG	GGT	ATG	GCG	TTC	CAG	1404
182	A	E	E	E	A	L	B	R	F	G	T	N	L	G	H	A	F	Q	199
1405	CTT	GTT	CAT	CAT	GCC	CTG	GAT	TAT	GCC	GCA	GAC	CAG	CAG	GTT	TTC	GCG	AAG	ACC	1458
200	L	V	D	D	A	L	D	Y	A	A	D	Q	Q	V	L	G	K	T	217
1459	GTT	GGT	GAT	CAC	ATG	CGT	GAA	GGC	AAG	ATC	ACC	CTG	CCG	GTC	CTG	GCC	GCC	TAT	1512
218	V	G	D	D	M	R	E	G	K	I	T	L	P	V	L	A	A	Y	235
1513	GAG	GCT	GGC	TCG	CCG	GAA	GAT	CGT	ATT	TTC	TGG	GAG	CGC	GTC	ATT	GGA	GAA	GCG	1566
236	E	A	G	S	P	E	D	N	I	F	W	E	R	V	I	G	E	G	253
1567	GAG	CAG	ACT	GAG	GAC	GAT	CTG	CCT	CAT	GCT	CTG	AAC	CTG	ATT	GCA	AAG	ACG	GGT	1620
254	E	Q	T	E	D	D	L	P	H	A	L	N	L	I	A	K	T	G	271
1621	GCG	ATC	AAT	ACG	ACG	ATC	GCC	CGC	GCG	CAG	GTC	TAT	GCC	GAC	GCA	GCT	GTT	GAA	1674
272	A	I	N	T	T	I	A	R	A	Q	V	Y	A	D	A	A	V	E	289
1675	GCC	CTG	TCC	ATT	TTC	CCG	GAT	AGC	GAA	CTG	GCG	CGC	CTT	CTG	ATC	GAA	ACG	GTT	1728
290	A	L	S	I	F	P	D	S	E	L	R	R	L	L	I	E	T	V	307
1729	CAG	TTC	ACG	GTG	AAT	CGG	GCC	CGC	TAA	AAA	CCA	TAT	TCT	GCG	TCA	GCC	AAC	TCA	1782
308	Q	P	T	V	N	R	A	R	*										315
1783	GGG	CTG	ACG	CAG	AAT	ATG	CTT	TCA	GGC	TGT	CAA	AGC	GAG	CGG	CCC	GAA	CAG	TGA	1836
1837	CCA	TCC	AGA	AAA	ACC	TAA	ACG	ACT	TAC	GGC	TGC	TTC	CAG	GCG	CAG	CGC	ATT	GAA	1890
1891	TGG	TGC	GCT	GGT	CAT	GAA	GAA	ACG	GGG	CAG	CTC	GGC	GGC	TGT	GTT	GGT	TGC	CGA	1944
1945	CGG	AAC	GAC	GGT	TTC	GAC	AAC	AGT	GGG	ATC	TGC	CGT	GCA	ACG	GCT	GGT	GCG	GGA	1998
1999	TCA	ATC	CAG	TTC	AGG	TTG	GGT	CGC	GCA	AGA	TGA	AAC	ACG	GCG	ATC	ACA	AAA		2052
2053	GAG	TAA	TGC	GTA	CAG	CCC	AGC	CCC	ACC	GTA	TCA	ATG	TCC	TCA	CCA	TGA	GCC	TGC	2106
2107	TCG	AAC	AGG	CAG	GTG														2121

【図 2】



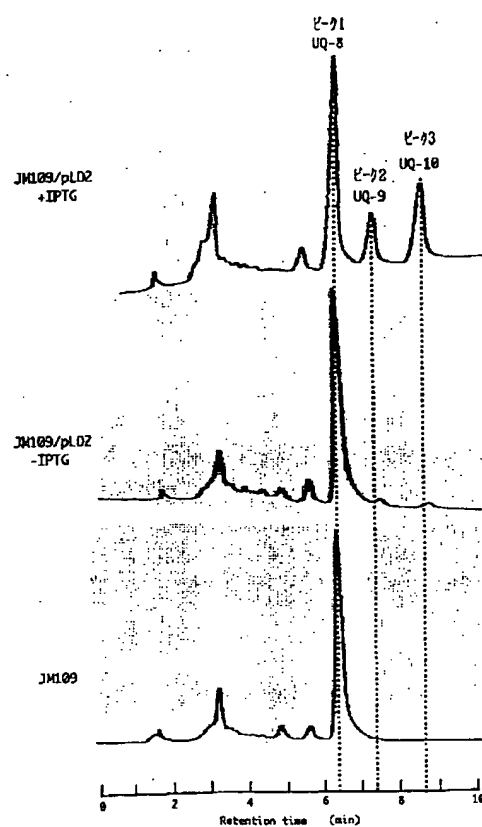
Vector : pUC18 2.68kb  
Insert : *dds1* 1.2kb  
Expression : *lacZ*-*dds1* fusion

【図 4】

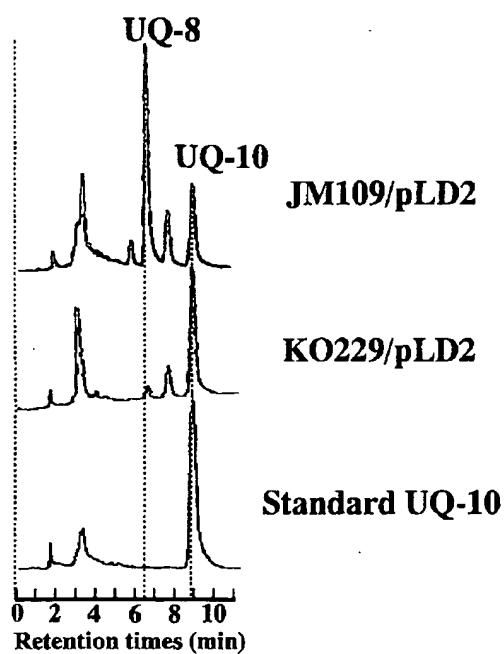


-pLD2 +pLD2  
JM109

【図 3】



【図 5】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>

C 1 2 R 1:19)

(C 1 2 P 7/66

C 1 2 R 1:19)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所